

Prof. dr hab. Ewa Hanczakowska  
Instytut Zootechniki  
Państwowy Instytut Badawczy

### Recenzja

Rozprawy doktorskiej pt.: **„Aktywność flory bakteryjnej i stan bariery ochronnej błony śluzowej jelita grubego młodych świń żywionych paszami z dodatkiem inuliny”** wykonanej przez mgr inż. Marcina Barszcza w Instytucie Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego PAN w Jabłonie

Zmiany w przepisach dotyczących dodatków paszowych skłaniają ostatnio do szukania ekologicznych substancji poprawiających zdrowotność i efekty produkcyjne zwierząt gospodarskich. Do niedawna największe zainteresowanie dotyczyło głównie substancji działających w jelicie cienkim, zwłaszcza w jego bliższych partiach, będących najważniejszym miejscem trawienia i wchłaniania składników pokarmowych. Od pewnego czasu wzrasta jednak zainteresowanie przemianami zachodzącymi w jelicie grubym, głównie ze względu na bytującą w nim florę bakteryjną wywierającą pośrednio wpływ na szereg funkcji fizjologicznych organizmu. Tak, więc przedstawione badania dobrze wpisują się w aktualne trendy nauk żywieniowych.

Podstawę przedstawionej do oceny rozprawy stanowią dwie prace. Ich tematem jest wpływ inuliny na florę bakteryjną i śluzówkę nabłonka jelita grubego u młodych świń.

Badania zrealizowano w ramach projektu badawczo-rozwojowego NR 120067 10 finansowanego ze środków Narodowego Centrum Badań i rozwoju pt: „Ekstrakty inuliny jako prebiotyczne dodatki paszowe dla zwierząt monogastrycznych”.

Prace stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej opublikowane zostały w języku angielskim, w prestiżowych czasopismach o IF 0.902 i 1.319 oraz odpowiednio 35 i 30 punktów MNiSW (łącznie IF=2,221 i 65 punktów). Obie zostały opracowane przez ten sam zespół autorów, przy czym Doktorant jest w obu przypadkach autorem pierwszym, a jego udział jest wiodący i wynosi po 60%.

Prace wchodzące skład rozprawy doktorskiej:

Barszcz A M., Taciak M. Skomial M., J. **Influence of different inclusion levels and chain length of inulin on 1 microbial ecology and the state of mucosal protective barrier in the large intestine of young pigs.** *Animal Production Science.* (praca zaakceptowana do druku)

Barszcz A M., Taciak M. Skomial M., J. **The effects of inulin, dried Jerusalem artichoke tuber and a multispecies probiotic preparation on microbiota ecology and immune status of large intestine in young pigs.** *Archives of Animal Nutrition* 70,278-292.

Obie prace dotyczą tego samego zagadnienia tj. wpływu dodatku inuliny pod różną postacią i w różnej ilości na środowisko w jelicie grubym prosiąt i jego status immunologiczny.

Inulina jest polisacharydem zbudowanym z około 30 cząsteczek cukrów prostych (fruktozy). Stanowi materiał zapasowy w szeregu gatunkach roślin, głównie z rodziny astrowatych. Stosowana jest między innymi w medycynie i przemyśle spożywczym. Inulina nie jest trawiona w jelicie cienkim i stanowi surowiec dla przemian w dalszych partiach przewodu pokarmowego.

W procesach fermentacyjnych syntetyzowane są krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe m.in. kwas octowy, propionowy i masłowy, które mogą mieć pozytywny wpływ na procesy fizjologiczne zwierząt. Bakterie jelitowe biorą udział w funkcjach trawiennych, biochemicznych, fermentacyjnych, syntezie witamin, utrzymania prawidłowego pH, a także koordynacji układu immunologicznego.

Te przemiany są tematem recenzowanej rozprawy. Preparat użyty w tych doświadczeniach pochodził z korzeni cykorii, a porównawczym źródłem inuliny był susz z topinanbura. Oceniano również wpływ probiotyku podawanego łącznie z inuliną.

Ponieważ, jak wspomniano, prace stanowiące podstawę rozprawy zostały opublikowane w prestiżowych czasopismach i zostały przed przyjęciem do druku recenzowane, a więc można uznać, że wszelkie nieuniknione błędy i niedopatrzania zostały usunięte przed drukiem. Uważam więc, że wystarczające będzie poddanie ocenie nowo wniesionych części rozprawy.

Opracowanie to liczy 53 strony i zawiera wykaz stosowanych skrótów, polskie i angielskie streszczenie, wstęp, hipotezy badawcze, cel i układ badań, wyniki, dyskusję oraz wnioski.

Autor wprowadza czytelnika w zagadnienie, rozwijając temat w obszernym Przeglądzie Literatury. Bibliografia obejmuje 96 pozycji w języku angielskim, z czego większość opublikowana została w ostatnich latach.

Przegląd składa się z trzech części, które można określić w skrócie jako mikrobiologiczną, immunologiczną i prebiotyczną. W pierwszej części Doktorant omawia skład i aktywność flory bakteryjnej jelita grubego świń i jej rolę w procesach fizjologicznych zachodzących nie tylko w przewodzie pokarmowym, lecz również w całym organizmie. W części drugiej omawia rolę ochronną śluzówki jelita grubego, przedstawiając bardzo szczegółowo czynniki biorące udział w procesach immunologicznych. Część trzecia poświęcona jest charakterystyce fruktanów i ich działaniu w przewodzie pokarmowym, a pośrednio również ich wpływowi na przemiany zachodzące w innych częściach organizmu.

W tej części rozprawy Doktorant umiejętnie wykorzystał aktualną literaturę tematu, nie ograniczając się do danych bezpośrednio odnoszących się do przeprowadzonych doświadczeń, ale ukazując badane zagadnienia na szerszym tle procesów fizjologicznych. Uważam, że po odpowiednich uzupełnieniach ten rozdział rozprawy mogłyby stanowić podstawę bardzo interesującej pracy przeglądowej.

Hipoteza badawcza i cel badań są sformułowane jasno i nie budzą zastrzeżeń.

Doktorant zastosował prawidłowe metody używane w tego rodzaju badaniach. Przemyślany układ badań, wykorzystanie wyników jednego doświadczenia przy planowaniu doświadczenia następnego pozwoliły Autorowi zrealizować założony cel i uzyskać wiarygodne wyniki.

Aby potwierdzić sformułowaną hipotezę badawczą oceniał aktywność flory bakteryjnej w treści pokarmowej poszczególnych odcinków jelita grubego analizując stężenie fruktanów i krótko łańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCFA). Badał również aktywność wybranych enzymów bakteryjnych ( $\beta$ -glukouronidazy i  $\alpha$ -glikozydazy) oraz pH treści pokarmowej. Oceniał również względną wielkość populacji wybranych bakterii tj. *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Colstridium spp.* i *Escherichia coli*. Oceniał również stan bariery ochronnej błony śluzowej w poszczególnych odcinkach jelita grubego oznaczając liczebność limfocytów śród nabłonkowych oraz stężenie wydzielniczej immunoglobuliny A w śluzie jelita (SIgA). Należy tu podkreślić nowoczesność i ogromną pracowitość wykonanych analiz.

Szkoda jedynie, że oba doświadczenia nie zostały wykonane na świniach tej samej rasy, co ułatwiłoby porównanie wyników. Można jednak sądzić, że wynikało to z niezależnych od Doktoranta przyczyn organizacyjnych. Niedosyt również budzi fakt, że w pracy nie ujęto wskaźników odchowu prosiąt. Nie pozwala to ocenić czy celowe jest stosowanie inuliny mieszankach paszowych dla prosiąt.

Wyniki ujęte są w formie punktów, co przy braku tabel nieco utrudnia zorientowanie się w całości bez uciekania się do publikacji.

Otrzymane rezultaty badań Doktorant omawia w ostatniej części rozprawy tj. Dyskusji. W tym rozdziale porównuje otrzymane przez siebie wyniki z wynikami uzyskanymi w innych laboratoriach i wyjaśnia mechanizm zaobserwowanych zjawisk. Występuje tu dysproporcja pomiędzy obszernym omówieniem procesów mikrobiologicznych, a skromnym poświęconym stanowi bariery ochronnej jelita grubego. Wynika to tak z metodyki przeprowadzonych doświadczeń, jak i mniejszej ilości prac innych badaczy dotyczących tego drugiego tematu. W zakończeniu dyskusji Autor słusznie stwierdza, że w niektórych przypadkach brak istotnych różnic w wynikach mógł być skutkiem prowadzenia badań w możliwie optymalnych warunkach, niesprzyjających ujawnianiu się pozytywnego wpływu dodatku.

Rozprawę kończy sześć wniosków precyzujących otrzymane wyniki. W krótkim podsumowaniu Doktorant stwierdził, że inulina o średnim stopniu polaryzacji  $\geq 23$  wywiera większy wpływ na aktywność flory bakteryjnej niż inulina o polaryzacji  $\geq 10$ , ale słabszy niż susz z bulw topinamburu oraz że dodatek różnych form inuliny nie wzmacnia bariery ochronnej jelita grubego prosiąt. Wskazuje ponadto na potrzebę dalszych badań nad tym zagadnieniem i określa cel tych badań.

Ponieważ rozprawa opiera się na już opublikowanych pracach, wszelkie niedociągnięcia (o ile takie były) zostały poprawione przed publikacją. Nie wiele, więc zostało dla krytycznych uwag recenzenta, mają one jednak charakter redakcyjny, a nie merytoryczny i nie obniżają wartości pracy.

W niektórych miejscach należałoby poprawić słownictwo. Np. trójglicerydy to obecnie triacylglicerole. Również lochy laktujące (str. 32) zamieniłabym na lochy karmiące.

Nieprzekonujący lub niepełny jest wniosek V. Jaki to jest wpływ?

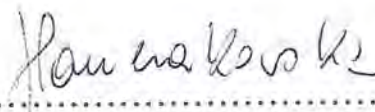
Drobne niezgodności występują również w cytowanej literaturze.

Pozycji „Kunisawa i wsp. 2007 (str. 25 i 26) brak w spisie literatury,

Pozycja Roberfroid, 1998 (str. 31) w spisie występuje, jako Roberfroid i wsp. 1998.

**Uważam, że przedstawiona rozprawa doktorska mgr inż. Marcin Barszcza stanowi cenne opracowanie naukowe o dużych walorach poznawczych. Autor wykazał się dobrą znajomością nowoczesnych technik badawczych oraz rzetelnością w realizacji badań. Świadczy to o dobrym przygotowaniu do pracy naukowej.**

Podsumowując, pragnę wyrazić wysoce pozytywną opinię na temat prac naukowych składających się na rozprawę doktorską. Uważam, że przedstawiona rozprawa doktorska w pełni odpowiada wymaganiom zawartym w Ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595) z późniejszymi zmianami (Dz. U. nr 164 poz.1365 z 2005 roku oraz Dz. U. nr 84 poz. 455 z 2011 roku) stawianym pracom doktorskim. W związku z powyższym zwracam się do Rady Naukowej Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. J. Kielanowskiego PAN w Jabłonie o dopuszczenie mgr Marcina Barszcza do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

  
.....  
Prof. dr hab. Ewa Hanczakowska

Balice 30. 11. 2016